

令和 4 年 5 月 23 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K16441

研究課題名(和文) Mac-2bpが腫瘍関連マクロファージを介して膵がんの治療抵抗性を導く機序の解析

研究課題名(英文) Analysis of the mechanism leading treatment resistance by Mac-2bp through tumor associated macrophage in pancreatic cancer.

研究代表者

光藤 傑 (Suguru, Mitsufuji)

大阪大学・医学系研究科・招へい教員

研究者番号：00828410

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、肝線維化のマーカーとして臨床応用され、様々な癌腫において発現が上昇し予後不良との関連が報告されているMac2-binding protein (M2BP)が膵癌における腫瘍関連マクロファージに与える影響に着目した。術前治療なしの膵癌切除標本における腫瘍関連マクロファージを免疫染色で評価すると、M2BP発現と腫瘍関連マクロファージのマーカーであるCD206が一致したことよりM2BPが腫瘍関連マクロファージを誘導する可能性が示唆された。膵癌細胞株の親株とゲムシタピン耐性株のM2BP発現を評価すると、親株と比較してゲムシタピン耐性株の方がM2BP発現が高いことが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

浸潤性膵管癌(以下、膵癌)は、集学的治療の開発が積極的に進められているが、その治療成績は未だ十分なものとは言えず、癌の治療抵抗性に関わる機序解明および新規治療標的の開発が今後必要とされている。本研究では様々な癌腫において発現の上昇しているM2BPが、膵癌において腫瘍の悪性度をもたらす腫瘍関連マクロファージを誘導する可能性を見出した。M2BPによる腫瘍関連マクロファージの誘導を抑制し、膵癌の治療抵抗性を制御することで、M2BPが新たな治療標的となり治療戦略の一助になり得ると考えている。

研究成果の概要(英文)：In this study, we focused on the effect of Mac2-binding protein (M2BP), which is clinically applied as a marker of liver fibrosis and reported to be upregulated in various types of cancers and associated with poor prognosis, on tumor-associated macrophages in pancreatic cancer. Immunohistochemistry of tumor-associated macrophages in resected pancreatic cancer specimens without preoperative therapy showed that M2BP expression coincided with CD206 expression, a marker of tumor-associated macrophages, suggesting that M2BP may induce tumor-associated macrophages. Evaluation of M2BP expression in the parental and gemcitabine-resistant pancreatic cancer cell lines showed that M2BP expression was higher in the gemcitabine-resistant line compared to the parental cell line.

研究分野：膵癌

キーワード：膵癌 腫瘍関連マクロファージ 治療抵抗性 Mac2-binding protein

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

浸潤性膵管癌 (以下、膵癌) は、今後も増加が予想される癌腫である。外科的切除は唯一の根治的治療であり、また集学的な治療開発も積極的に進められているが、その治療成績は未だ限られたものである。そのため、癌の進展に関わる解析および新たな治療標的の開発が今後も必要とされている。

本研究において着目した Mac2-binding protein (以下、M2BP) は 90kDa で産生される分泌糖タンパクであり、レクチンファミリーのガレクチン-3 に対するリガンドである。肝線維化のマーカーとして臨床応用される一方、様々な癌腫において発現が上昇していること、予後不良との関連を示すことも報告されている。

一般的に癌細胞は免疫細胞による抗腫瘍作用から免れるシステムを有すると考えられているが、その機序に腫瘍微小環境に存在するマクロファージが密に関連していることが近年報告されている。マクロファージ (以下、M0) は炎症応答を引き起こす M1 マクロファージや、腫瘍増殖に関与する M2 マクロファージ (以下、M2) に分化することが知られており、後者は腫瘍関連マクロファージ (Tumor-associated macrophage: 以下、TAM) と呼ばれ、化学療法抵抗性に関与することが示唆されている。癌細胞は M0 を M2 に分化し、さらに M2 は癌細胞の腫瘍増殖能や化学療法抵抗性を誘導するといった悪循環のサイクルに陥ることが報告されている。

これまでに、ゲムシタビン耐性膵癌細胞株 Panc1-GR の培養上清で亢進しているフコシル化タンパクの解析から、70kDa の M2BP の産生が亢進していることを見出した。フコシル化された M2BP を最も強く認識するモノクローナル抗体 (以下、抗体 A) を作成し、抗体 A の特徴について検討したところ、抗体 A は立体構造を認識することで 70kDa の M2BP fragment を特異的に認識することが示唆されている。また膵癌切除検体を用いた免疫染色、および *in vitro* における膵癌細胞株とマクロファージの共培養系にて、70kDa の M2BP が TAM の一部を誘導することが示唆された。

以上の背景から、膵癌細胞より分泌される M2BP が TAM を介して膵癌の治療抵抗性を導くという仮説を立案し、詳細について解析することとした。

2. 研究の目的

膵癌細胞と TAM が相互作用するメカニズムを解明することで膵癌治療の発展に貢献することを目的とした。

3. 研究の方法

①膵切除標本における M2BP の発現と臨床経過に関する検討

大阪大学医学部附属病院で 2010 年 4 月-2018 年 10 月の期間に膵癌に対して根治切除を施行した切除サンプル (66 例) を用いて、抗 M2BP 抗体を用いた免疫組織化学染色を行い TAM の評価を行った。

②膵癌細胞を用いた M2BP の局在の検討

M2BP は生体内で 90kDa の糖タンパクとして存在しているが、ゲムシタビン耐性を持った膵癌細胞株の lysate と培養上清において、70kDa の M2BP の発現が親株と比較して上昇していた。膵癌細胞の親株とゲムシタビン耐性株を用いて、それぞれの lysate と培養上清における親株と耐性株での 90kDa と 70kDa の M2BP の発現量の違いを評価した。

③膵がん細胞とマクロファージの共培養の検討

先行研究において、70kDa の M2BP に対する抗体と TAM のマーカーである CD206 を用いて膵がん切除サンプルの蛍光二重免疫染色を評価したところ、両者の共局在を認めたことから、TAM の一部に 70kDa の M2BP が存在することが示唆されている。この結果より M0 マクロファージに M2BP が作用することで、M2 マクロファージが誘導されている可能性が示唆された。70kDa の M2BP が TAM を誘導するかどうか検討するために、M0 マクロファージをゲムシタビン耐性株と共培養し TAM が誘導されるか検討した。

4. 研究成果

①膵切除標本における M2BP の発現と臨床経過に関する検討

膵切除標本を用いて M2BP 高発現群と M2BP 低発現群に分類し、無再発生存期間と全生存期間を解析したが、いずれも 2 群間に有意な差は認められなかった。

②膵癌細胞を用いた M2BP の局在の検討

膀胱癌細胞の親株とゲムシタビン耐性株を用いて、90kDa と 70kDa の M2BP の発現量の違いを Western Blotting を用いて評価すると、親株と比較してゲムシタビン耐性株において M2BP 発現が高いことが示された。

③膀胱がん細胞とマクロファージの共培養の検討

70kDa の M2BP が TAM を誘導するかどうか検討するために、M0 マクロファージを膀胱がん細胞株の親株とゲムシタビン耐性株と共培養したが、M0 から TAM の誘導は確認できなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------